



TITLE:

# 免疫グロブリンD<sub>H</sub>遺伝子形成過程の分子進化学的研究(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

市原, 慶和; 黒沢, 良和

---

CITATION:

市原, 慶和 ...[et al]. 免疫グロブリンD<sub>H</sub>遺伝子形成過程の分子進化学的研究(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 1990, 20: 64-65

ISSUE DATE:

1990-08-07

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/164123>

RIGHT:

つの種の重複遺伝子に生じた同じ塩基置換。b) 同化置換：1つの種の重複遺伝子の片方に生じ、それにより重複遺伝子間で同じ塩基になる置換。c) 異化置換：1つの種の重複遺伝子の片方に生じ、それにより重複遺伝子間で異なる塩基になる置換。a)あるいはb)の座位が連続するとそれを含む領域の遺伝子変換を強く支持する。逆に共通祖先に生じたc)が保存されている領域は遺伝子変換を否定する。こうして同定された遺伝子変換領域は重複遺伝子間で相同な領域とよく一致していた。これによりC<sub>α</sub>遺伝子はヒト上科の共通祖先で遺伝子重複し、ヒト上科の進化過程で遺伝子変換を繰り返してきたことが明らかになった。

#### DNA多型現象の霊長類の系統分化と個体識別研究への応用

中堀 豊・中込 弥男 (小児医療研セ)  
竹中 修 (霊長類研)

ヒトのY染色体よりクローン化したDNA断片をプローブとして用い、種々な霊長類に対しサザンブロット法による解析を行った。これらのプローブにより検出される座位は、必ずしもY染色体上に止らず、Xないし常染色体上に座位を占める場合も少なからず見られ、また進化の過程で常染色体からY染色体上に移動した事例も経験した。

87-4 a クローンは、ヒトのXおよびY染色体上に座位を占めるが、チパンジー、旧世界猿6種の内3種 (ニホンザルなど)、新世界猿2種の内1種 (フサオマキザル)、牛において同様の所見を示した。他方、旧世界猿の3種 (ミドリザルなど)、新世界猿であるタマリン、マウスやラットでは、Xのみに座位が認められ、Y染色体上には相同の塩基配列が検出されなかった (サザンブロットにより解析した限りにおいて)。

X染色体上の座位が極めて良く進化的に保存されていたことから、本クローンにつき詳細な解析を行ったところ、本座位は歯のエナメル質合成に際して先導的に合成される蛋白アメロゲンと判明した。ヒトのX上とY上の座位、さらに文献的に報告のある牛及びマウスの座位の塩基配列の比較により、何れにおいても3個のエクソンと、中間のイントロンが識別された。進化的に保存の程度の低いY染色体上の座位がcDNA型の偽遺伝子でなく、エクソン/イントロン構造を保持し

ていたことは注目に値するが、ヒトと種々な程度の近縁関係にある霊長類における、XとY両染色体 (種によってはXのみ) 上の本遺伝子の構造は興味深いものがあり、今後の課題である。

#### 免疫グロブリンD<sub>H</sub>遺伝子形成過程の分子進化学的研究

市原 慶和・黒沢 良和 (藤田学園保健衛生大)

免疫グロブリンによる抗原認識の多様性は主に高頻度変異領域の多様性によると考えられている。重鎖の場合にはD<sub>H</sub>遺伝子を中心とするCDR III領域が抗原認識に特に重要であり、我々はヒトおよびマウスについてD<sub>H</sub>遺伝子の構造解析を進めてきた。その結果、ヒトについて6種類の全く異なるD<sub>H</sub>遺伝子が9 kbのDNA領域に存在し、この単位が4回繰り返されていることを明らかにした。またマウスではヒトのD<sub>A</sub>と相同と考えられるD<sub>FL16</sub>、D<sub>SP2</sub>が共通の祖先型D<sub>H</sub>遺伝子から進化した可能性を示し、D<sub>A</sub>以外のヒトD<sub>H</sub>遺伝子はマウスには認められないことを示した。今回はヒトに見出されたD<sub>H</sub>遺伝子の重複がどの霊長類において検出されるかを解析することにより、D<sub>H</sub>遺伝子の進化過程を明らかにすることを目的として研究を行った。各種サル血球細胞からDNAを抽出してHind III消化、アガロース電気泳動後常法に従いヒト各種D<sub>H</sub>遺伝子をプローブとしたサザンハイブリダイゼーションを行った。その結果、チンパンジー、オランウータン、テナガザル、アカゲザル、ミドリザル、リスザル、タマリンにおいて複数のバンドが観察された。このことはこれら真猿類におけるD<sub>H</sub>遺伝子の重複を示している。一方オオギャラゴ、ワオキツネザルではどのプローブでもほぼ単一のバンドしか認められず、これら原猿類では9 kbの1単位のみを有すると考えられた。またマウス、ジャコウネズミ、ツパイではヒトD<sub>H</sub>遺伝子とハイブリダイズするバンドは認められなかった。以上の結果から原猿類においてヒト型D<sub>H</sub>遺伝子を有すること、D<sub>H</sub>遺伝子単位の重複が原始原猿類から真猿類が分岐する時点に起こったことが示唆された。マウスではD<sub>A</sub>を残して他のヒト型D<sub>H</sub>遺伝子を欠失したと考えられる。これらのことをより明確にするためにオオギャラゴ、ワオキツネザルのD<sub>H</sub>遺伝子のクローニングとその構造解析、マウスD<sub>H</sub>遺伝子を

プローブとしたサザンハイブリダイゼーションを推進している。

## ミトコンドリアDNAの塩基配列の比較による霊長類の系統関係の解析

宝来 聡・早坂 謙二(国立遺伝研)  
石田 貴文(京大霊長研)

我々は、すでに10頭のニホンザルの肝臓から精製したミトコンドリアDNA(mtDNA)のDループ領域の長さに多型がみられることを報告してきた。そこで、本研究では、11地域集団由来の90頭のニホンザルの血液、培養細胞、肝臓から抽出した全DNAを材料として、PCR法によりmtDNAのDループ領域を増幅した。増幅の結果、630bp, 800bp, 970bpの長さの異なる3つの断片が得られた。さらに、制限酵素、Kpn I, Hinc IIの認識部位の有無をもとに、さきに報告した10頭を含む12集団由来、100頭のニホンザル mtDNAを8つのタイプに分類することができた。タイプ2が6集団に、タイプ5が伊豆と高崎山で観察されたが、残りの6タイプは各1地域集団でのみ見られた。また、複数の試料が得られた9領域集団中6集団では、1つのタイプのみが観察された。800bpの長さのタイプ1と4, 970bpの長さのタイプ7と8は、Dループ領域内の170bpの配列が各1回ないし2回重複していると考えられ、そのうち、Kpn I 認識部位のみを持つタイプ1と7が高浜だけで、Hinc II 認識部位のみを持つタイプ4と8が屋久島だけで観察された。先の制限酵素による解析と今回の結果から、4つの長いタイプが、630bpの短いタイプから比較的最近、独立して派生したと、および一度重複が起こると、さらに重複がおこりやすくなることが示唆された。

## 霊長類におけるグロビン遺伝子の分子進化に関する研究

服巻 保幸・スパンフーチャラン(九大遺伝情報)  
竹中 修(京大霊長研)

$\delta$ および $\beta$ グロビン遺伝子は約4千万年前に遺伝子重複により生じたものと考えられているが、旧世界猿類では $\delta$ グロビン遺伝子の発現が全く認められず、一方新世界猿類では種々の発現量を示

し $\delta$ グロビン遺伝子は進化の過程で不活化しつつあることが知られている。そこで両猿類の $\delta$ グロビン遺伝子の構造を解析することにより、重複遺伝子の不活化の分子機構を明らかにすることを目的として研究を行った。1) 旧世界猿類としては*Cercopithecus aethiops*の $\delta$ グロビン遺伝子をクローン化し解析を行った。すでに*Papio doguera*, *Macaca mulatta*についてはフレームシフト変異が、*Colobus polykomos*ではcapサイトの欠失が明らかにされているが、このいずれの変異もまた他の遺伝子の不活化をきたすような変異も見い出せなかった。そこで近縁の*Erythrocebus patas*の $\delta$ グロビン遺伝子についてPCR法を用いて解析を行ったが同様な結果であった。現在エンハンサーの変異の可能性を検討するために、5'および3'フランキング領域の解析を進めており、旧世界猿類の $\delta$ グロビン遺伝子共通の不活化機構を明らかにできる可能性がある。2) 新世界猿類として*Oedibomidas oedipus*の $\delta$ および $\beta$ グロビン遺伝子をクローン化してその塩基配列を決定した。現在この配列を参考にしてオリゴヌクレオチドを合成し、他の新世界猿類の $\delta$ グロビン遺伝子をPCR法を用いて解析中である。

## 課題 15

霊長類の長鎖高度不飽和脂肪酸誘導酵素の活性に及ぼす加齢の影響

藤本健四郎・金沢 文子(東北大)

n-3系高度不飽和脂肪酸であるドコサヘキサエン酸(DHA)は生体膜の主要成分であり、脳・神経系には特に多く存在する。DHAは海産物から摂取できるが、欧米型の食生活では植物油脂中のリノレン酸がその供給源であり体内でDHAに生合成される。DHA合成能が加齢によって変化すること、脳・神経系の発達が著しい幼若期にはDHA供給が不可欠であることが示唆されているが、本実験ではカニクイザルをモデルとして検討を試みた。

胎仔120日、新生仔、成獣のカニクイザルの肝臓、脳からミクロソームを調製し、標識脂肪酸(リノレン酸またはエイコサペンタエン酸)と補酵素類を含む緩衝液中で反応させ、反応生成物を抽出し、HPLCで分画分取した後、液体シンチレー